

Aus dem Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie
Seewiesen und Erling-Andechs

**Die Wirkung von Pharmaka auf Kurzzeitschätzung
und circadiane Periodik von Säugetieren**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München.

vorgelegt von

Konrad Freiherr v. u. z. Bodman

aus Möggingen

1970

1969

Referent: Prof. Dr. Hansjochem Autrum

Tag der mündl. Prüfung: 14. Januar 1970

Z. vergl. Physiologie 68, 276—292 (1970)

© by Springer-Verlag 1970

Die Wirkung von Pharmaka auf Kurzzeitschätzung und circadiane Periodik von Säugetieren

KONRAD VON BODMAN *

Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen und Erling-Andechs

Eingegangen am 10. März 1970

* Inaugural-Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

The Effect of Drugs on the Estimation of Short-time Intervals and the Circadian Rhythm of Mammals

Summary. The aim of these studies was to determine whether the estimation of short time intervals and the circadian rhythm of locomotor activity depend on the same clock mechanism. In a Y-shaped discrimination box, 5 Wistar rats learned to differentiate between a 22 sec and a 38 sec interval. Subsequently, tests were made in order to determine whether the animals would react to an interval of 30 sec as they would to the short (22 sec) or to the long (38 sec) training interval after injection of amphetamine, or hexobarbital or physiological saline or without pretreatment.

Under the influence of amphetamine all rats preferred the reaction, which was related to the long interval (38 sec), while under the other three test conditions they chose randomly (Fig. 3; Table 1). Three test animals, which did not learn time discrimination, chose randomly under all 4 conditions (Table 1). These results show that amphetamine accelerates the processes underlying short-time estimation.

The circadian rhythm of locomotor activity of wood mice (*Apodemus sylvaticus* L.) was lengthened under the influence of amphetamine (Fig. 7 and 8). This corresponds to a slowing down of the underlying processes. Amount of activity increased under the influence of amphetamine (Fig. 6).

The opposite effects of amphetamine on short-time estimation and on circadian period indicates that both performances are based on two different mechanisms.

Zusammenfassung. Es wurde untersucht, ob die Schätzung kurzer Zeitintervalle und die circadiane Periodik der Laufaktivität auf dem gleichen Mechanismus beruhen.

5 Wistar-Ratten lernten in einer Y-förmigen Apparatur, ein 22 sec-Intervall von einem 38 sec-Intervall zu unterscheiden. Nach Injection von Amphetamin, Evipan und Ringerlösung und ohne Injection wurde geprüft, ob die Tiere die zwischen den Dressurintervallen gelegene Zeitstrecke von 30 sec als kurz oder als lang beurteilten.

Unter Amphetamin-Einfluß bevorzugten alle 5 Ratten die zu dem langen Intervall gehörige Reaktion, während sie unter den 3 anderen Bedingungen keine der beiden Dressurintervallen zugeordneten Reaktionen bevorzugten (Abb. 3; Tabelle 1). 3 Kontrolltiere, die keine Zeitunterscheidung erlernt hatten, wählten unter allen 4 Bedingungen zufallsgemäß (Tabelle 1). Amphetamin beschleunigt also die der Zeitschätzung zugrunde liegenden Vorgänge.



Die circadiane lokomotorische Aktivität von Waldmäusen wurde unter Einwirkung von Amphetamin verlängert (Abb. 7 und 8), was einer Verlangsamung der zugrunde liegenden Vorgänge entspricht. Die Aktivitätsmenge pro Periode wurde deutlich erhöht (Abb. 6).

Die entgegengesetzten Wirkungen von Amphetamin auf die Kurzeitschätzung und auf die circadiane Aktivitätsperiodik zeigen, daß die beiden Leistungen auf verschiedenen Mechanismen der Zeitmessung beruhen.

I. Einleitung

Beim Menschen und bei einer Reihe von Tieren wurde die Fähigkeit nachgewiesen, kurze Zeitstrecken zu schätzen und Zeitintervalle verschiedener Länge zu unterscheiden (Übersicht s. Fraisse, 1964). Ferner können Menschen sowie einige Tiere Tageszeiten bestimmen (zusammenfassende Arbeiten s. Clauser, 1954; Renner, 1958; Bünning, 1967). Die letztgenannte Fähigkeit ist eine Voraussetzung für das Richtungsfinden mit dem Sonnenkompaß. Es wurde gezeigt, daß die bei dieser Orientierungsart notwendige tageszeitliche Kompensation der Sonnenwanderung auf den gleichen physiologischen Vorgängen beruht, die auch die circadiane Periodik der lokomotorischen Aktivität steuern (Hoffmann, 1960a).

Bislang sind weder die Prozesse bekannt, die den circadianen Rhythmen zugrunde liegen, noch jene Vorgänge, die die Schätzung kurzer Zeiten ermöglichen. Auch läßt sich nichts darüber sagen, ob beide Funktionen einem gemeinsamen oder zwei verschiedenen Zeitmeß-Mechanismen zuzuordnen sind. Wenn beide Funktionen auf dem gleichen Mechanismus beruhen, sollten bei einer Beeinflussung dieses Mechanismus (z. B. durch Pharmaka) beide gleichsinnig geändert werden.

Beim Menschen sind Einwirkungen von Pharmaka auf Schätzungen kurzer Zeiten nachgewiesen (Übersicht s. Otto, 1963); so beschleunigt z. B. Amphetamin die den Zeitschätzungen zugrunde liegenden Prozesse, während Barbiturate sie verlangsamen (Goldstone et al., 1957; Frankenhaeuser, 1959; Rutschmann, 1960). Freilaufende circadiane Rhythmen unter einem länger dauernden Einfluß dieser Drogen wurden bisher nicht untersucht (vgl. S. 291).

Im folgenden soll untersucht werden, ob diese beiden Drogen bei Zeitschätzungen von Tieren die gleichen Wirkungen wie beim Menschen haben, und ob Amphetamin die Zeitschätzung und die circadiane Periodik der lokomotorischen Aktivität in gleicher oder verschiedener Richtung beeinflusst. Aus einer Änderung nur einer dieser Funktionen oder aus einer Beeinflussung der beiden Zeitmessungen in entgegengesetzter Richtung läßt sich schließen, daß beiden Leistungen verschiedene Vorgänge zugrunde liegen. Bei gleichgerichteter Wirkung wäre ein gleicher Mechanismus zumindest wahrscheinlich.

II. Versuchstiere und -haltung

Für die Zeitschätzungsversuche wurden männliche Wistar-Ratten verwendet. Die bei Beginn der Versuche ungefähr 11 Wochen alten Tiere wurden einzeln in Käfigen gehalten. Der Raum mit den Käfigen und der Versuchsraum wurde von Tageslicht beleuchtet. Als Standardfutter wurde „Altromin“ geboten. Vor den Versuchen erhielten die Tiere jeweils 23 Std lang kein Futter; Wasser hatten sie immer ad lib. zur Verfügung. Für die Versuche zur circadianen Aktivitätsperiodik wurden neben männl. Ratten männl. Waldmäuse (*Apodemus sylvaticus* L.) verwendet, die in der Umgebung gefangen wurden (weiteres s. S. 285).

III. Unterscheidung von Zeitintervallen bei Ratten

A. Methode

Dressuren auf Unterscheidung von kurzen Zeitstrecken bei Tieren werden hauptsächlich mit zwei Methoden durchgeführt. In einem Fall lernen die Tiere ein festes Intervall, bei der zweiten Methode müssen sie verschiedene Zeitintervalle beurteilen und je nach der Länge der Intervalle mit verschiedenem Verhalten antworten.

Methoden, bei denen Tieren das Einhalten eines festen Intervalles andressiert wird, sind nicht geeignet zur Prüfung der Frage, in welcher Richtung Drogen das zugrunde liegende Zeitmeßsystem ändern können. Wenn hierbei die erlernte zeitgebundene Handlung z.B. verfrüht ausgeführt wird, so läßt sich kaum ausschließen, daß die Verfrühung auf einer Änderung einer Erwartungs- oder Erregungsschwelle beruht, ohne daß das Zeitmeßsystem betroffen ist.

Für das hier gestellte Problem kam daher nur die zweite Dressurmethode in Frage. Ich benutzte eine Methode ähnlich der von Cowles und Finan (1941) und Heron (1949). Die Tiere hatten die Möglichkeit, in einer Y-förmigen Apparatur nach Vorgabe eines entsprechenden Zeitintervalles in einem rechten oder linken Kasten Futter zu bekommen. Vier Ratten erhielten nach einem 22 sec-Intervall rechts und nach einem 38 sec-Intervall links eine Belohnung, während für 4 andere Ratten das Gegenteil galt. Die Belohnung, vor der Wahl für die Tiere nicht wahrnehmbar, bestand aus Haferflocken. Bei falscher Wahl wurden die Tiere nicht belohnt, aber auch nicht bestraft.

Die einzelne Dressursitzung lief folgendermaßen ab: die Ratte wurde in eine geschlossene „Startkammer“ eingesetzt und bekam ein von Lichtblitzen (Taschenlampenbirne, 6 V) eingegrenztes leeres Intervall; nach dessen Ende öffnete sich eine Klappe und die Ratte konnte nun am Ende eines rechten oder linken Ganges — je nach Länge der Intervalles — die Belohnung erreichen. Unabhängig davon, ob sie richtig oder falsch gewählt hatte, mußte sie zur Startkammer zurücklaufen, um ein neues Intervall zu beurteilen. Jedem Versuchstier wurden 10 Intervalle in etwa einminütigen Abständen geboten.

Die Dressur erfolgte möglichst täglich zu gleichen Zeiten am Vor- sowie am Nachmittag. Die Reihenfolge der zwei Intervalle wurde einer Zufallstabelle mit 64 10er-Kombinationen entnommen (Gellerman, 1933; Geigy-Tabellen, 1960). Die

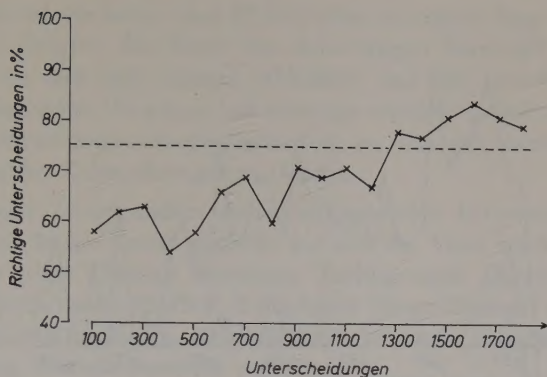


Abb. 1. Lernverlauf bei Ratte Nr. 5. Unterscheidung zwischen 22 sec- und 38 sec-Intervallen. Richtige Wahlen in Prozent. ----- 75%-Linie; bei Erreichen dieser Linie Beginn der Pharmakaversuche

Lichtblitze zur Eingrenzung der Intervalle wurden mit Hilfe eines Kondensators immer gleich lang (0,5 sec) gehalten. Um Links- Rechts-Unterscheidungsfehler zu verringern, war während allen Versuchen in einem Gang eine weiße Marke befestigt. Die Startkammer war im Gegensatz zu den zwei anderen Gängen mit einem schwarzen Stoff bedeckt, um visuelle Ablenkungen während der Vorgabe der Intervalle auszuschließen.

B. Dressurerfolg

Dressuren nach dieser Methode von Cowles und Finan (1941) und Heron (1949) hatten gezeigt, daß Ratten zur Unterscheidung kurzer Zeitintervalle fähig sind. Bei diesen Arbeiten wurden aber keine längeren Dressuren durchgeführt; die Versuche wurden jeweils nach Erreichen eines Kriteriums abgebrochen oder abgeändert. Für meine Versuche war es wichtig, daß eine einmal erworbene Unterscheidung auch über längere Zeit verläßlich andauerte.

Abb. 1 gibt ein Bild von dem gesamten Dressurverlauf bei Ratte Nr. 5; die Kurve zeigt den Verlauf einer üblichen Lernkurve (Foppa, 1968). Von den 8 Versuchstieren erlernten 5 Tiere eine Unterscheidung zwischen 22- und 38 sec-Intervallen. Sie wählten hierbei in 82—85 von 100 Unterscheidungen den richtigen Kasten. Diese Anzahl von richtigen Wahlen verbesserte sich trotz weiterer Dressur nicht mehr.

C. Zeitschätzungen unter Pharmaka-Einfluß

Allgemeines. Zur Prüfung von Drogenwirkungen auf die Zeitschätzungen war es wichtig, mit solchen Drogen zu arbeiten, die ihre Wirkungsmaxima schnell erreichen und schnell abgebaut werden. Ich benutzte als Stimulans „Amphetamin“ (Elastonon¹) und als Hypnoticum „Hexobarbital“ (Evipan).

¹ Das Elastonon stellten mir die Nordmark-Werke in Uetersen freundlicherweise zur Verfügung.

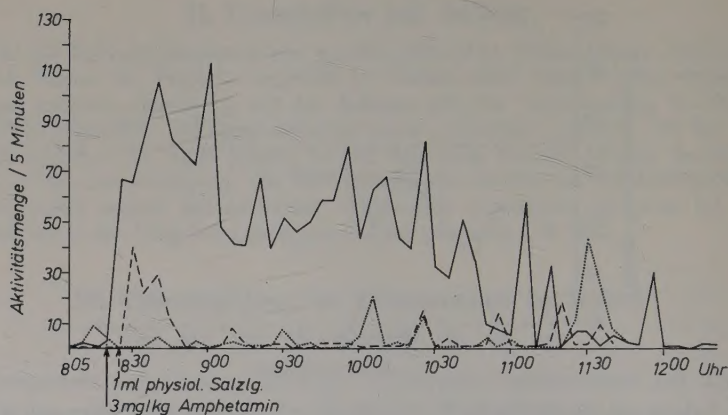


Abb. 2. Aktivitätsmenge einer Ratte (♂) im Schwingkäfig an 3 Tagen zur jeweils gleichen Tageszeit. Test der Wirkung von 3 mg/kg Amphetamin und Ringerlösung auf die Aktivitätsmenge normale Aktivitätsmenge zu dieser Tageszeit

Amphetamin zählt zu den sympathicomimetischen Aminen; bei Tieren wird nach Amphetamin-Injection die Aktivität erhöht (Searle and Brown, 1938; Heimstra, 1962; Randrup, 1963, 1965; Weissman, 1965). Diese Erhöhung zeigte sich auch in meinen Untersuchungen. Abb. 2 gibt als Beispiel die Aktivitätsmenge einer Ratte in einem Schwingkäfig (zur Methode s. Aschoff, 1951) nach einer subcutanen Injection von 3 mg/kg Amphetamin im Vergleich zur Aktivitätsmenge nach einer Injection von Ringerlösung und zur normalen Aktivitätsmenge während dieser Tageszeit wieder. Neben einer Erhöhung der Aktivität zeigen die mit Amphetamin injizierten Tiere spezifische stereotype Verhaltensweisen, wie intensives Schnüffeln und Lecken an den Käfigwänden oder ruckartige Bewegungen.

Evipfan zählt zu den beliebtesten Einschlafmitteln und wird auch als Narkosemittel benutzt. Die Hauptwirkung besteht in einer Hemmung des Zentralnervensystems. Bei subcutaner Injection von 48 mg/kg wurden bei meinen Ratten die Bewegungen nach 8—12 min langsamer und unkoordiniert. Nach 12—15 min konnten sich die Tiere nicht mehr fortbewegen; sie erholten sich aber von diesem Zustand nach wenigen Minuten wieder.

Versuchsdurchführung. Zur Prüfung von Drogenwirkungen wurde die Zeitunterscheidungs-Methode in folgender Weise erweitert: den auf eine Unterscheidung zweier Intervalle (22 sec gegen 38 sec) dressierten Tieren wurde im Kontrollversuch ein drittes dazwischenliegendes Intervall (30 sec) angeboten. Sie mußten nun entscheiden, ob sie dieses

Intervall als relativ kurz (eher 22 sec) oder als relativ lang (eher 38 sec) empfanden. Zeigten die Tiere das dem langen Intervall zugeordnete Verhalten, so ließ sich daraus schließen, daß die der Zeitschätzung zugrunde liegenden Vorgänge beschleunigt wurden; zeigten sie das dem kurzen Intervall zugeordnete Verhalten, so ließ sich daraus eine Verlangsamung der Zeitmeßvorgänge ableiten.

Nach einer einigermaßen sicher andauernden Unterscheidung zwischen 22 und 38 sec wurde geprüft, wie sich die Tiere bei Vorgabe eines 30 sec-Intervalles a) unter normalen Bedingungen (Kontrollversuch); b) unter Amphetamin-Einfluß (3 mg/kg in Ringerlösung); c) unter Evippan-Einfluß (48 mg/kg in Ringerlösung); d) nach Injection von 1 ml Ringerlösung (Placeboversuch) verhielten.

Da bei den erfolgreich dressierten Tieren die Leistungen während der einzelnen Sitzungen schwankten (z. B. einmal pro Sitzung 9 richtige, dann nur 6 oder 7 und dann wieder 10 richtige), setzte ich die Dressur (22 sec gegen 38 sec) weiter fort. Jedesmal, wenn mindestens 8 der 10 Unterscheidungen richtig waren und somit eine Voraussetzung für sichere Schätzungen gegeben schien, folgten direkt nacheinander 3 Schätzungsversuche (30 sec-Intervalle; z.T. auch 32 sec, s. unten). Vor diesen Versuchen bzw. sofort nach der Dressursitzung wurde den Tieren das entsprechende Pharmakon injiziert. Bei einem Amphetaminversuch folgten die 3 Schätzungen 45 min nach der Injection (Wirkungsmaximum), bei Evippan nach ungefähr 10 min und bei den Placebo- bzw. Kontrollversuchen entsprechend nach 45 oder 10 min. Die 4 verschiedenen Versuche (Kontrolle, Placebo, Amphetamin und Evippan) folgten in unregelmäßigem Wechsel aufeinander; nur bei Ratte Nr. 4 folgten die Evippanversuche erst nach Abschluß der 3 anderen Fragestellungen.

Ergebnisse. Abb. 3 zeigt die Ergebnisse der 30 sec-Schätzungen von Ratte Nr. 3. Abgebildet ist der Prozentsatz, bei dem das Tier den Kasten wählte, in dem es bei der Dressur nach einem langen Intervall (38 sec) belohnt wurde (die Wahlen des anderen Kastens [22 sec] ergeben sich aus der Differenz des abgebildeten Prozentsatzes zu 100%). Drei Ratten wählten während der Kontroll- und Placeboversuche beide Kästen ungefähr gleich oft (als Beispiel s. Abb. 3; vgl. auch v. Bodman, 1969). Zwei Ratten bevorzugten dagegen den 22 sec-Kasten (als Beispiel s. Abb. 4). Bei diesen beiden Ratten erhöhte ich deshalb für die Evippanversuche das Schätzungsintervall auf 32 sec. Hier zeigten beide Ratten dann ebenfalls eine etwa gleichhäufige Wahl beider Kästen während der Kontroll- und der Placeboversuche. Unter Amphetamin-Einfluß ergab sich bei allen 5 Ratten eine Bevorzugung des 38 sec-Kastens. Bei den Evippanversuchen unterschieden sich die Wahlen nicht gegenüber den Wahlen während der Kontroll- und der Placeboversuche, außer bei Ratte Nr. 1, die eine geringe Bevorzugung des 22 sec-Kastens zeigte.

Um sicher zu gehen, daß Amphetamin den den Schätzungen zugrunde liegenden Mechanismus beeinflußt und die Ergebnisse nicht durch andere Einflüsse verfälscht sind, prüfte ich die Wirkung von Amphetamin bei

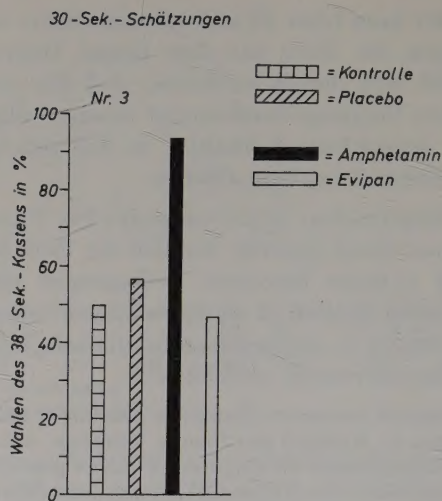


Abb. 3. 30 sec.-Schätzungen bei Ratte Nr. 3 mit erlernter Unterscheidung zwischen 22 sec- und 38 sec-Intervallen. Prozentsatz der Wahlen des dem langen Intervall (38 sec) zugeordneten Kastens nach Vorgabe von 30 sec. Jeder Versuchsgruppe (Kontrolle, Placebo, Amphetamin und Evipan) liegen 30 Schätzungen zugrunde

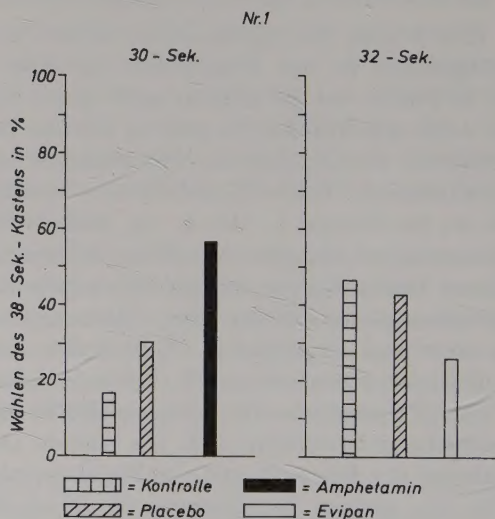


Abb. 4. Ratte Nr. 1 mit erlernter Unterscheidung zwischen 22 sec- und 38 sec-Intervallen. Wahlen nach Vorgabe eines 30 (32) sec-Intervalles. Weitere Erläuterungen s. Abb. 3

Kontrolltieren: Ratte Nr. 6 und 7, die während der Dressur keine Unterscheidung zwischen 22- und 38 sec-Intervallen erlernt hatten und Nr. 9, die nicht dressiert worden war. Die 3 Ratten wählten bei den 30 sec-Schätzungen unter allen 4 Fragestellungen ungefähr gleichoft den gleichen Kasten (s. Tabelle 1). Somit kann die unter Amphetamin bevorzugte Wahl eines Kastens bei den erfolgreich dressierten Tieren nur auf der erlernten Zeitunterscheidung beruhen. Tabelle 1 faßt die Ergebnisse der 5 Versuchstiere und der 3 Kontrolltiere zusammen (χ^2 -Test; einseitiger Test, da Richtungswirkung der Pharmaka bekannt ist). Da bei den Kontroll- und Placeboversuchen die Wahlen meistens gleich verteilt waren, war es möglich, beide Versuchsergebnisse zusammenzufassen und gegen die Amphetamin- und Evipanversuche zu testen.

Tabelle 1. *Ergebnisse der 5 Versuchstiere und der 3 Kontrolltiere bei den 30 sec-Schätzungen. Wahlen des 38 sec(22-sec)-Kastens. Bei Ratte 1 und 2 sind in der 2. Reihe die 32 sec-Schätzungen aufgeführt*

Ratte Nr.	Kontrolle (K)	Placebo (Pl)	Amphet. (A)	Evipan (E)	Signifikanz (einseitiger χ^2 -Test)	
					K + PL:A	K + Pl:E
<i>Versuchstiere</i>						
1	5 (25)	9 (21)	17 (13)		< 0,0025	
	14 (16)	13 (17)		8 (22)		< 0,10
2	11 (19)	11 (19)	20 (10)		< 0,0125	
	18 (12)	12 (18)		11 (19)		Pl:E > 0,35
3	15 (15)	17 (13)	28 (2)	14 (16)	< 0,0125	> 0,25
4	16 (14)	15 (15)	25 (5)	15 (15)	< 0,005	> 0,49
5	12 (18)	15 (15)	29 (1)	16 (14)	< 0,0025	> 0,30
1—5	59 (91)	67 (83)	119 (31)		< 0,00025	
	75 (75)	72 (78)		64 (86)		> 0,10
<i>Kontrolltiere</i>						
6	13 (17)	10 (20)	14 (16)	16 (14)	> 0,25	> 0,10
7	20 (10)	17 (13)	20 (10)	18 (12)	> 0,40	> 0,40
9	16 (14)	14 (16)	13 (17)	13 (17)	> 0,35	> 0,25

Die Wahlen unter den Kontroll- und Placebobedingungen und alle Wahlen der Kontrolltiere waren zufallsgemäß verteilt. Unter Amphetamin bevorzugten alle 5 Tiere signifikant den 38 sec-Kasten und überschätzten somit das 30 sec-Intervall.

Amphetamin beschleunigt demnach die Vorgänge, die den Schätzungen zugrunde liegen. Bei Evipan ließ sich kein signifikanter Unterschied gegenüber den Kontroll- und Placeboversuchen sichern.

IV. Wirkung von Amphetamin auf die circadiane Aktivitätsperiodik

A. Methode

Gemessen wurde die lokomotorische Aktivität von männl. Wistar-Ratten und männl. Waldmäusen (*Apodemus sylvaticus* L.). Die Tiere wurden einzeln in kleinen Drahtkäfigen mit Zugang zu einer Lauftrommel gehalten. Jede Trommelumdrehung führte zum Kontaktschluß eines Mikroschalters, dessen Spannungsimpuls auf einem Zeitmarkenschreiber und auf einem Druckzähler registriert wurde. Die Lauftrommeln standen in schalldichten Kästen (Einzelheiten dieser Kästen und deren Beleuchtungsvorrichtung s. Wever, 1967) bei const. Temperatur ($20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$) und const. Beleuchtung (Beleuchtungsstärke individuell verschieden zwischen 0,03 und 1,7 Lux). Da die Tiere möglichst ungestört bleiben sollten wurde während der 10–20tägigen Amphetaminversuche das Pharmakon in das Futter (Haferflocken) und in das Wasser gegeben. Eine exakte Angabe der von den Tieren aufgenommenen Amphetaminmenge ist deswegen nicht möglich. Nach Berechnungen des Futter- und Wasserverbrauchs nahmen die Ratten ungefähr 25–45 mg pro Tag und die Mäuse ungefähr 11–18 mg Amphetamin pro Tag auf.

B. Ergebnisse

1. Ratten

Aktivitätsmenge pro Periode. Als Aktivitätsmenge wurde die Zahl der Trommelumdrehungen (= Zahl der Kontakte; Druckerwerte) pro circadiane Periode verwendet. Da die Aktivitätsmenge der einzelnen Tiere sehr unterschiedlich war, wurde das Mittel der Aktivitätsmenge an den Tagen vor der Amphetamin-Verabreichung gleich 100% gesetzt und mit den Mitteln der Aktivitätsmenge während und nach dem Drogenversuch verglichen. Zur Bestimmung der Mittelwerte vor und nach Applikation der Droge wurde ein der Dauer des Amphetaminversuches entsprechender Zeitraum verwendet.

Bei 5 von 6 Versuchen mit 3 Tieren stieg die pro Periode geleistete Aktivitätsmenge an (zwischen 8 und 48%); sie war im Mittel aller Versuche um 25% höher, als vor der Drogeneinwirkung. Nach Absetzen der Droge fiel der Wert wieder ab und entsprach im Mittel der Versuche ungefähr dem vor den Drogenversuchen erhaltenem Wert (3% höher als dieser Ausgangswert). Infolge der geringen Versuchszahl (Wechsel des Versuchstieres s. unten) ist eine statistische Behandlung dieses Ergebnisses nicht angebracht.

Periodenlänge (τ). Die 6 Versuche mit 3 Ratten ergaben keinen Einfluß von Amphetamin auf die Periodenlänge der circadianen Aktivitätsperiodik (Beispiel s. Abb. 5). Allerdings lieferte die Aktivitätsperiodik dieser Tiere keine klar erkennbaren bevorzugten Phasenpunkte, die eine präzise Messung der Periodenlänge erleichtern (vgl. Abb. 5). Geringfügige Wirkungen der Amphetamingaben könnten dadurch verschleiert worden sein. Sichere Aussagen über schwache Wirkungen der Droge wären bei einem derartigen Aktivitätsmuster nur mit einer sehr großen Anzahl von Versuchstieren bei sehr langen Aufzeichnungen möglich gewesen. Sehr lange Aufzeichnungen erhöhen aber die Möglichkeiten, daß durch spon-

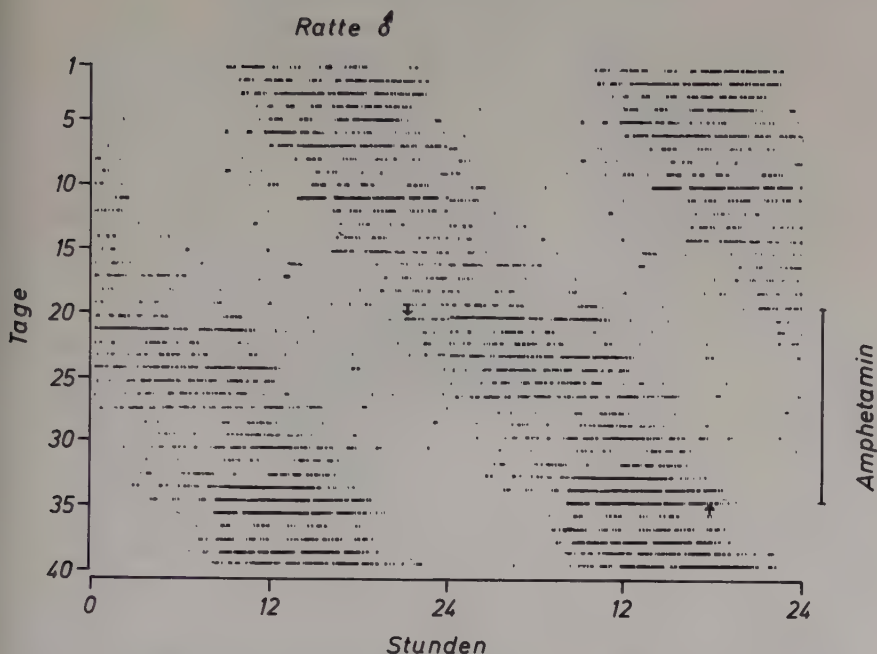


Abb. 5. Circadiane Aktivitätsperiodik (Lauftrummler) einer Ratte (♂) im Dauerlicht von 0,3 Lux vor, während und nach Zugabe von Amphetamin zum Futter und Wasser (Amphetaminverbrauch ≈ 30 mg pro Tag). Zeitpunkt des Beginns $\downarrow$ und des Endes $\uparrow$ des Drogenversuches. Zur besseren Übersicht wurde die Registrierung rechts noch einmal wiederholt

tane Frequenzänderungen (vgl. Hoffmann, 1960b; Lohmann, 1967) das Bild verfälscht wird.

2. Waldmäuse

Für die weiteren Versuche benützte ich daher Waldmäuse, die klar bestimmbare Aktivitätsanfänge zeigen, welche nur wenig streuen (s. Abb. 7; vgl. auch Hoffmann, 1969). Hier sollte auch eine geringfügige Änderung der Periodenlänge deutlich erkennbar werden.

Der Wechsel des Versuchstieres scheint erlaubt, da einerseits Untersuchungen zum circadianen Verhalten ergeben hatten, daß Mäuse und Ratten als dunkelaktive Tiere den gleichen circadianen Gesetzmäßigkeiten unterworfen sind (bei Waldmäusen Zollhauser, 1958; bei *Mus musculus* Aschoff, 1962), andererseits zeigten auch andere Muriden unter Amphetamin-Einfluß das gleiche Verhalten; so z.B. erhöhte lokomotorische Aktivität und spezifische stereotype Verhaltensweisen (Epstein, 1959; Melander, 1961; s. auch S. 280).

Aktivitätsmenge pro Periode. Die Ergebnisse von 12 Versuchen, die in gleicher Weise wie bei den Ratten ausgewertet wurden, sind in Abb. 6

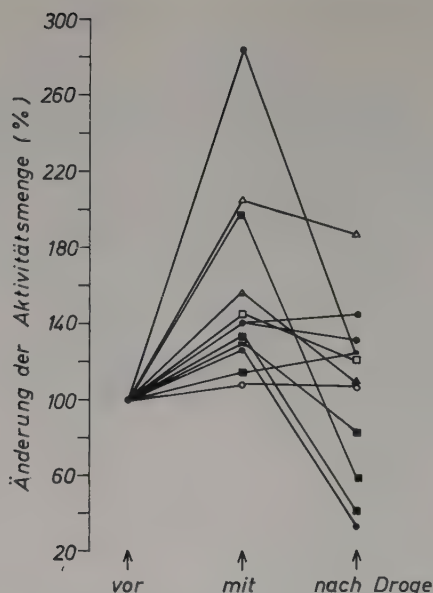


Abb. 6. Änderungen der Aktivitätsmenge pro Periode bei 12 Versuchen mit 6 Waldmäusen nach Zugabe von Amphetamin zum Futter und Wasser. Vergleich der Mittel der Aktivitätsmenge während Amphetamin-Applikation und während der Tage nach Absetzung der Droge zum Mittel der Aktivitätsmenge an den Tagen vor den Drogenversuchen ($= 100\%$). Jedes Tier ist durch ein verschiedenes Symbol gekennzeichnet

dargestellt. Bei allen Versuchen stieg die Aktivitätsmenge nach Drogenzugabe an; sie war im Mittel aller Versuche um 50% höher als vor der Drogeneinwirkung (zur Statistik s. Tabelle 2). Nach Absetzen des Amphetamins fiel der Wert bei 10 der 12 Versuche wieder ab und war im Mittel nicht signifikant verschieden von dem Wert an den Tagen vor den Drogenversuchen (s. Tabelle 2). In Abb. 7 ist ein Originalaktogramm von 2 Versuchen mit einer Maus abgebildet. Man erkennt, daß die Zeiten, in denen das Tier aktiv war, unter der Einwirkung von Amphetamin verlängert sind. Die Erhöhung der Aktivitätsmenge kam aber nicht nur durch die Verlängerung der Aktivitätszeiten (zur Bewertung von Aktivitäts- und Ruhezeiten s. S. 289), sondern auch durch eine Erhöhung der Aktivitätsmenge pro Zeiteinheit, während der Aktivitätszeit zustande.

Periodenlänge (τ). Aus den Aktivitätsanfängen an den Tagen vor der Amphetaminverabreichung wurde durch Berechnung der Regressionsgeraden der Zeitpunkt bestimmt, zu welchem am Tag nach Absetzen der Droge das Tier bei ungestörtem Lauf der Periodik hätte aktiv werden sollen. Bei einer durch die Droge verursachten Änderung der Periodenlänge während der Drogenapplikation sollte das Tier aber am Tag nach Absetzen der Droge zu einem ganz anderen Zeit-

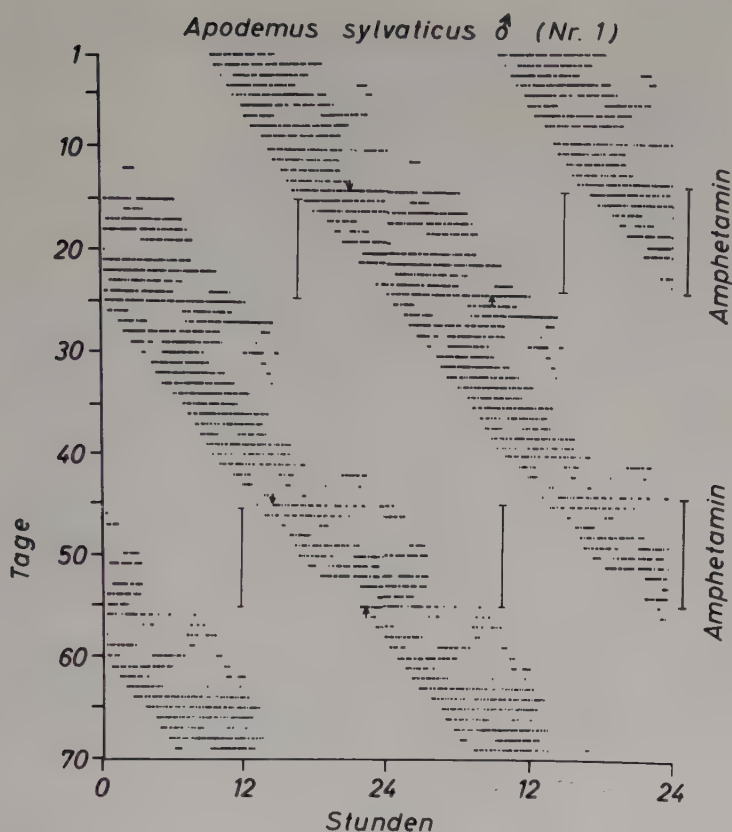


Abb. 7. Circadiane Aktivitätsperiodik (Lauftrammel) einer Waldmaus (♂) im Dauerlicht von 1,7 Lux vor, während und nach Amphetaminversuchen. Amphetaminverbrauch ≈ 13 mg pro Tag. Durch Amphetamin verursachte τ -Änderung im 1. Versuch = $+0,26$ Std und im 2. Versuch = $+0,22$ Std. Weitere Erläuterungen s. Abb. 5

punkt aktiv werden. Dieser Aktivitätsbeginn wurde in gleicher Weise aus den Aktivitätsanfängen an den Tagen nach den Drogenversuchen berechnet (hierbei wurde vorausgesetzt, daß sich nach einem Amphetaminversuch wieder etwa die gleiche Periodenlänge einstellt, wie sie während der Tage vor den Drogenversuchen bestanden hatte. Diese Voraussetzung war erfüllt). Die durch Amphetamin verursachte Änderung der Periodenlänge ($-\Delta\tau$) ergab sich dann aus der Differenz der beiden berechneten Aktivitätsbeginne nach Division durch die Anzahl der Tage mit Drogeneinwirkung. Für die Berechnung der Regressionsgeraden wurde ein der Dauer der Drogenapplikation entsprechender Zeitraum verwendet.

In Abb. 8 sind die bei Amphetamin-Einwirkung aufgetretenen $\Delta\tau$ -Werte dargestellt. In allen 12 Fällen war unter Amphetamin-Einfluß die Periodenlänge verlängert. In dem Aktogrammbeispiel Abb. 7 sind die

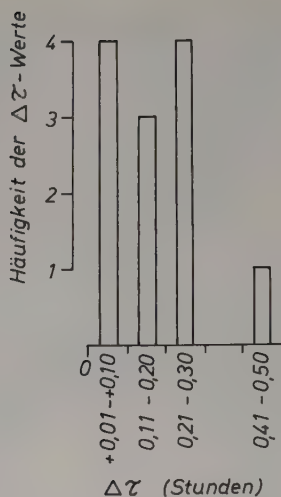


Abb. 8. Häufigkeitsverteilung der unter Amphetamin-Einwirkung aufgetretenen Änderungen der Periodenlänge ($=\Delta\tau$) bei 12 Versuchen mit 6 Waldmäusen

Verlängerungen erkennbar. Die Verlängerung betrug im Mittel aller Versuche 0,18 Std. Nach Absetzen des Amphetamins verkürzte sich in allen Fällen die Periodik wieder; sie war im Mittel gegenüber den Tagen vor den Drogenversuchen nur um 0,02 Std länger.

C. Erörterung der Drogenwirkung

In Tabelle 2 sind die durch Amphetamin verursachten mittleren Änderungen der Aktivitätsmenge und der Periodenlänge zusammengestellt. Beide Meßgrößen zeigen unter der Drogeneinwirkung signifikante

Tabelle 2. Mittlere Änderungen der Aktivitätsmenge pro Periode und der Periodenlänge (τ) nach Verabreichung von Amphetamin unter sonst const. Bedingungen bei 12 Versuchen mit 6 Waldmäusen. Erhaltene mittlere Werte während A=vor (bei Aktivitätsmenge=100%), B=während und C=nach den Drogenversuchen. $\pm$ =mittlerer Fehler des Mittelwertes. $t=t$ -Test (t -Test für die Differenz zweier Mittelwerte aus verbundenen Stichproben)

	Differenzen der Meßwerte			
	B-A		C-A	
Aktivitätsmenge pro Periode (%)	$+56 \pm 14$ $t=3,9068$	$p < 0,005$	$+5 \pm 12$ $t=0,3536$	$p > 0,70$
Periodenlänge (τ) (Std)	$+0,18 \pm 0,03$ $t=5,5370$	$p < 0,001$	$+0,02 \pm 0,04$ $t=0,4257$	$p > 0,60$

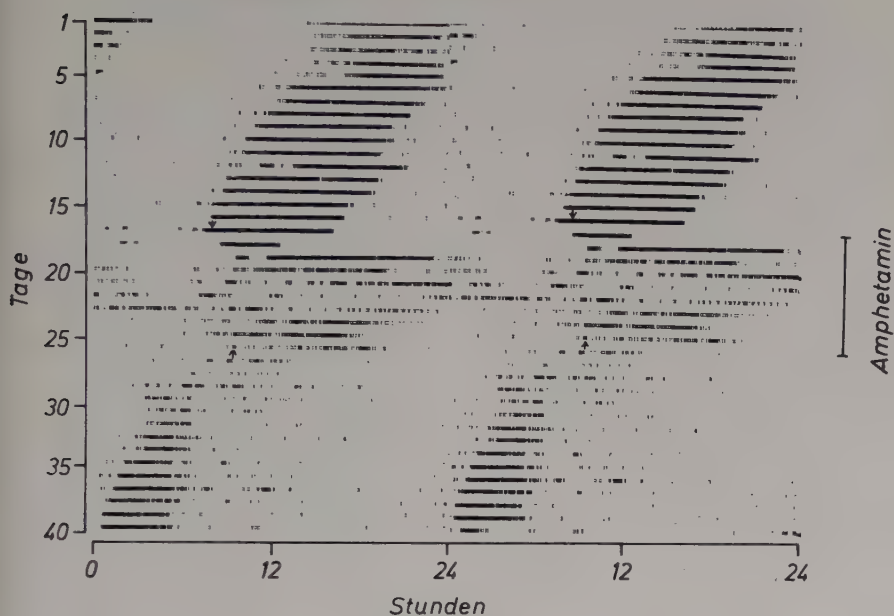
Apodemus sylvaticus ♂


Abb. 9. Circadiane Aktivitätsperiodik (Schwingkäfig) einer Waldmaus (♂) im Dauerlicht von 0,3 Lux vor, während und nach Zugabe von Amphetamin zum Futter und Wasser (Amphetaminverbrauch ≈ 14 mg pro Tag). Weitere Erläuterungen s. Abb. 5

gerichtete Veränderungen: Erhöhung der in der Lauftrommel pro Periode geleisteten Aktivität und Verlängerung der Periodenlänge.

Während der Aktivitätszeit der Tiere waren in vielen Fällen zwei verschieden große Aktivitätsmaxima zu erkennen (vgl. Abb. 7): ein Hauptmaximum am Anfang und ein Nebenmaximum am Ende der Aktivitätszeit. Eine derartige Aktivitätsaufteilung gibt es bei vielen Tieren (Übersicht s. Aschoff, 1962). Da zwischen beiden Maxima in einigen Fällen eine aktivitätsfreie Zeit lag, in anderen Fällen aber beide Maxima ineinander übergingen oder auch kein Nebenmaximum auftreten konnte, war eine sichere Bestimmung der Aktivitäts- und Ruhezeiten nicht möglich.

Ein vor dem Drogenversuch nicht in Erscheinung tretendes Nebenmaximum konnte auch erst unter Amphetamin-Einfluß auftreten. Hierfür bietet sich folgende Erklärung an: nach Aschoff (1960, 1964) und Wever (1965) liegt der circadianen Periodik der lokomotorischen Aktivität ein kontinuierlicher Prozeß zugrunde, der durch eine Schwelle in zwei Teile zerlegt wird; überschreitet dieser periodische Vorgang die Schwelle so wird das Tier aktiv, unterschreitet er die Schwelle, hört die Aktivität auf. Wenn durch Amphetamin die Lage des Niveaus relativ zur Schwelle ansteigt, so könnte ein vorher unterschwelliges Nebenmaximum die Schwelle überschreiten und somit in Erscheinung treten.

Die Erhöhung der Aktivitätsmenge bzw. die erhöhte Anzahl von Trommelumdrehungen nach Verabreichung von Amphetamin dürfte auf die sympathicomimetische und somit leistungssteigernde Wirkung der Droge zurückzuführen sein (s. S. 280).

Mit der Lauftrommel wird allerdings nicht die gesamte spontane Aktivität beurteilt, sondern eine Art von reaktiver Aktivität, die durch den Reiz der sich drehenden Trommel modifiziert wird (Aschoff, 1962). Die durch Amphetamin verursachte Verlängerung der Periodenlänge dürfte aber nicht auf eine etwaige Rückwirkung der in der Lauftrommel erhöhten Aktivität beruhen. Versuche von Pohl (1968) haben gezeigt, daß bei Siebenschläfern bei Senkung der Umgebungstemperatur die Aktivität in Lauftrommeln erhöht wird, daß die circadiane Aktivitätsperiodik dabei aber verkürzt wird. Bei 6 Versuchen, in welchen bei Waldmäusen die Wirkung von Amphetamin auf die circadiane Aktivitätsperiodik in Schwingkäfigen (zur Methode s. Aschoff, 1951) untersucht und somit die gesamte spontane Aktivität gemessen wurde, war die Periodenlänge ebenfalls verlängert (als Beispiel s. Abb. 9). Die Verlängerung der Periodik ist somit eine echte Wirkung des Amphetamins und nicht von der Technik der Registrierung abhängig.

V. Diskussion

Kurzzeitschätzung. Aus den hier vorgelegten Untersuchungen über die Wirkung von Drogen auf Schätzungen kurzer Zeiten bei Ratten ergibt sich, daß Amphetamin den der Zeitschätzung zugrunde liegenden Prozeß beschleunigt: bei Vorgabe eines 30 sec dauernden Intervalles bevorzugten die Tiere deutlich die dem langen Intervall (38 sec) zugeordnete Reaktion. Dieses Ergebnis stimmt mit an Menschen erhaltenen Befunden überein (s. Frankenhaeuser, 1959)).

Auf eine Beschleunigung des Zeitmeßmechanismus durch Amphetamin weisen auch Versuche von Sidman (1955) hin: Ratten, die in einer Skinnerbox erlernt hatten, in jeweils 21 sec-Abständen auf einen Hebel zu drücken, betätigten unter Amphetamin-Einfluß den Hebel in kürzeren Zeitabständen. Bei dieser Methode blieb aber fraglich, ob eine Beschleunigung des zugrunde liegenden Zeitmeßsystems oder eine Änderung der Erregungsschwelle das Ergebnis bewirkte (vgl. S. 278).

Warum das Hypnoticum Evipan bei den hier durchgeführten Versuchen die Zeitschätzungen der Ratten nicht klar veränderte, wogegen ähnliche Hypnotica beim Menschen zur Unterschätzung von kurzen Zeiten führten, bleibt noch ungeklärt.

Circadiane Periodik. Amphetamin verlängerte signifikant die circadiane lokomotorische Aktivitätsperiodik. Welche Prozesse für die Verlängerung der Periodenlänge verantwortlich sind, läßt sich infolge der

vielseitigen Wirkungen dieser Droge aus den vorliegenden Ergebnissen nicht ableiten.

Versuche über die Wirkung von Amphetamin auf die circadiane Periodik liegen bisher nur mit Kanarienvögeln von Wahlström (1968) vor. In diesen Versuchen wurde aber nicht die circadiane Periode selbst, sondern ein kompliziertes Licht-Dunkel-Wahlverhalten untersucht, was eine klare Deutung der Versuche erschwerte. Außerdem wurde die Droge nicht kontinuierlich appliziert. Bei Beobachtung nur weniger Perioden nach kurzen Drogeninjectionen läßt sich kaum klären, ob der gemessene Einfluß auf einer Änderung der der Periodik zugrunde liegenden Prozesse oder auf einer direkten Wirkung auf den gemessenen Vorgang beruht.

Zeitmeßmechanismus. Da die von den Ratten zur Schätzung kurzer Zeiten verwandten Anhaltspunkte nicht aus der Umgebung stammen können, muß ihnen ein innerer Zeitmeßmechanismus zugrunde liegen. Die Ergebnisse zeigen, daß dieser Mechanismus nicht mit den der circadianen Periodik zugrunde liegenden endogenen Vorgängen identisch ist: Amphetamin beschleunigte den der Schätzung zugrunde liegenden Prozess, verlangsamte aber die circadiane Periodik. Daraus ist zu folgern, daß beide Leistungen auf verschiedenen Mechanismen beruhen.

Herrn Dr. Hoffmann vom Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie in Erling-Andechs danke ich für die Anregung zu diesem Thema und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit. Herrn Prof. Aschoff danke ich dafür, daß er mir die Durchführung der Versuche im Max-Planck-Institut in Erling-Andechs ermöglichte.

Literatur

- Aschoff, J.: Messung der lokomotorischen Aktivität von Mäusen mittels mechanischer Gleichrichter. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **254**, 262—266 (1951).
- Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **25**, 105—113 (1960).
- Spontane lokomotorische Aktivität. In: *Handbuch der Zoologie*, Bd. 8, S. 1—74. Berlin: W. de Gruyter 1962.
- Die Tagesperiodik licht- und dunkelaktiver Tiere. *Rev. suisse Zool.* **71**, 528—558 (1964).
- Bodman, K. v.: Pharmakawirkung auf Kurzeitschätzungen bei Ratten. *Naturwissenschaften* **56**, 335 (1969).
- Bünning, E.: *The physiological clock*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967.
- Clauser, G.: *Die Kopfuhr*. Stuttgart: Enke 1954.
- Cowles, J. T., Finan, J. L.: An improved method for establishing temporal discrimination in white rats. *J. of Psychol.* **11**, 335—342 (1941).
- Epstein, A. N.: Suppression of eating and drinking by amphetamine and other drugs in normal and hyperphagic rats. *J. comp. physiol. Psychol.* **52**, 37—45 (1959).
- Foppa, K.: *Lernen — Gedächtnis — Verhalten*. Köln: Kiepenheuer und Witsch 1968.
- Fraisse, P.: *The psychology of time*. London: Eyre and Spottiswoode 1964.
- Frankenhaeuser, M.: *Estimation of time*. Uppsala: Almqvist & Wiksell 1959.

- Geigy-Tabellen: Documenta Geigy. Wissenschaftl. Tabellen. Basel: J. R. Geigy 1960.
- Gellerman, W. L.: Chance orders of alternation stimuli in visual discrimination experiments. *The Pedagogical Seminary* **42/43**, 64—83 (1933).
- Goldstone, S., Boardman, W.: Effect of quinal-barbitone, dextroamphetamine and placebo on apparent time. *Brit. J. Psychol.* **49**, 324—328 (1958).
- Heimstra, N. W., Donald, A.: Social influence on the response to drugs. II. Response to amphetamine sulfate as a function of age. *Psychopharm.* **3/4**, 38—44 (1962/63).
- Heron, W. T.: Time discrimination in the white rat. *J. comp. Physiol. Psychol.* **42**, 27—31 (1949).
- Hoffmann, K.: Experimental manipulation of the orientational clock in birds. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **25**, 379—387 (1960a).
- Versuche zur Analyse der Tagesperiodik. *Z. vergl. Physiol.* **43**, 544—566 (1960b).
- Die relative Wirksamkeit von Zeitgebern. *Oecologia (Basel)* **3**, 184—206 (1969).
- Lohmann, M.: Zur Bedeutung der lokomotorischen Aktivität in circadianen Systemen. *Z. vergl. Physiol.* **55**, 307—322 (1967).
- Melander, B., Gliniecke, H.: Amphetamine, diethylpropion and tranlycypromin, a psychopharmacological study in the relation between structure and activity. *Acta pharmacol. (Kbh.)* **18**, 239—248 (1961).
- Otto, E.: Modifizierende und kontinuierende Faktoren der Zeitwahrnehmung beim Menschen. *Biol. Rsch.* **1**, 1—18 (1963).
- Pohl, H.: Einfluß der Temperatur auf die freilaufende circadiane Aktivitätsperiodik bei Warmblütern. *Z. vergl. Physiol.* **58**, 364—368 (1968).
- Randrup, A. J., Munkvad, J.: Adrenergie mechanisms and amphetamine-induced abnormal behavior. *Acta pharmacol. (Kbh.)* **20**, 145—157 (1963).
- Special antagonism of amphetamine-induced abnormal behavior. *Psychopharmacol.* **7**, 416—422 (1965).
- Renner, M.: Der Zeitsinn der Arthropoden. *Ergebn. Biol.* **20**, 127—158 (1958).
- Rutschmann, J., Rubinstein, L.: Time estimation, knowledge of results and drug effects. *J. Psychiat. Res.* **4**, 107—114 (1966).
- Searle, L. V., Brown, C. W.: The effect of subcutaneous injections of benzedrine sulfate on the activity of white rats. *J. exp. Psychol.* **22**, 480—490 (1938).
- Sidman, M.: Technique for assessing the effects of drugs on timing behavior. *Science* **122**, 925 (1955).
- Wahlström, G.: The effects of ($\pm$) amphetamine sulphate on the self-selected circadian rhythm of activity and rest in the canary. *Brit. J. Pharmacol.* **34**, 218 (1968).
- Weisman, A., Koe, B. K.: Behavioral effects of L- β -methyltyrosine an inhibitor of tyrosine hydroxylase. *Life Sci.* **4**, 1037—1048 (1965).
- Wever, R.: A mathematical model for circadian rhythms. In: *Circadian clocks* (ed. J. Aschoff), p. 47—63. Amsterdam: North Holland Publ. Co. 1965.
- Zum Einfluß der Dämmerung auf die circadiane Periodik. *Z. vergl. Physiol.* **55**, 255—277 (1967).
- Zollhauser, M.: Versuche über Ruhe- und Aktivitätsperioden bei verschiedenen Mäusearten. *Z. vergl. Physiol.* **40**, 642—663 (1958).

Dr. Konrad Frhr. v. Bodman
Max-Planck-Institut für
Verhaltensphysiologie
D-8131 Erling/Andechs

Lebenslauf

Am 13. Oktober 1941 wurde ich als Sohn des Landwirtes Nikolaus Freiherr v. u. z. Bodman und seiner Gemahlin Monika, geb. Gräfin Spee, in Möggingen (Kreis Konstanz) geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Möggingen und einem 6jährigen Aufenthalt im humanistischen Gymnasium „Kolleg St. Blasien“ legte ich 1963 an dem humanistischen Gymnasium „Heinrich-Suso“ in Konstanz die Reifeprüfung ab.

Im Sommer-Semester 1963 begann ich das Studium der Naturwissenschaften an der Universität Bonn. Nach 4 Semestern wechselte ich von dort an die Universität München über.

Die vorliegende Arbeit fertigte ich an dem Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie Seewiesen und Erling-Andechs, Abt. Prof. Aschoff, unter der Leitung von Dr. Klaus Hoffmann an.

Konrad Freiherr v. u. z. Bodman

